

·综述·

本文引用:陈晓东,潘华峰,蔡甜甜,赵自明,赵金媛,林钟宇.亚硝基胍复制胃癌癌前病变大鼠模型的研究概况[J].湖南中医药大学学报,2017,37(4):457-460.

## 亚硝基胍复制胃癌癌前病变大鼠模型的研究概况

陈晓东<sup>1</sup>,潘华峰<sup>1\*</sup>,蔡甜甜<sup>1</sup>,赵自明<sup>2</sup>,赵金媛<sup>3</sup>,林钟宇<sup>3</sup>

(1.广州中医药大学脾胃研究所,广东 广州 510006; 2.广东省中医药工程技术研究院,广东 广州 510006;

3.广州中医药大学经济管理学院,广东 广州 510006)

**[摘要]** N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine,MNNG)是一种化学诱变剂及致癌剂,人类在长期摄入MNNG后易致慢性萎缩性胃炎甚至胃癌,许多学者将MNNG作为诱发胃癌癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer,PLGC)动物模型造模制剂,以制备出符合实验要求的PLGC动物模型。本文通过搜索近年来使用MNNG复制PLGC动物模型的相关研究,根据使用MNNG造模过程中所涉及到的造模方式分类,比较构建PLGC大鼠模型的多种方法,探寻更为简单易行的PLGC动物模型造模方式,为深入开展该病的相关研究提供更符合科研与临床实际要求的模型支撑。

**[关键词]** N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍;胃癌癌前病变;大鼠模型;造模方式

**[中图分类号]**R573.9 **[文献标识码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.04.031

### Research Status of MNNG in Building PLGC Model Rats

CHEN Xiaodong<sup>1</sup>, PAN Huafeng<sup>1\*</sup>, CAI Tiantian<sup>1</sup>, ZHAO Ziming<sup>2</sup>, ZHAO Jinyuan<sup>3</sup>, LIN Zhongyu<sup>3</sup>

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 2. Research Institute of Chinese Medicine Engineering and Technology in Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 3. School of Economics and Management, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

**[Abstract]** N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) is a kind of chemical mutagen and carcinogenic agents. Long-term intake of MNNG easily cause the occurrence of chronic atrophic gastritis and gastric cancer of humans. Many scholars regard MNNG as the preparation of making precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) animal model which fit in with experimental requirements. In this paper, we searched about the studies that using MNNG to make PLGC animal model in recent years. The methods of building PLGC animal models were compared to seeking the more simple and high success rate way, which provide more meet the requirements of the scientific research and clinical practice model for in-depth development of the related research of this disease.

**[Keywords]** N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; precancerous lesions of gastric cancer;rat model;building model method

胃癌癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer,PLGC)是指慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)胃黏膜萎缩伴一类容易发生癌变的胃黏膜病理组织学变化,包括肠上皮化生(intestinal metaplasia,IM)和异型增生(dysplasia),其中伴中

度以上的异型增生和不完全大肠型化生则称之为真正的PLGC。鉴于PLGC是CAG向胃癌转变的关键时期,及时有效的治疗是CAG治疗、预防胃癌、降低胃癌高发率和高病死率的有效措施,而PLGC模型则是研究胃癌发生机制和评价CAG治疗药物必

**[收稿日期]**2016-11-21

**[基金项目]**国家自然科学基金(81473620,81673946);广州市哲学社会科学“十三五”规划2016年度课题(2016GZJ07);四川医事卫生法治研究中心2016年度项目(YF16-Q17);广州市公共卫生服务体系研究基地2016年度课题;广州市社科联羊城青年课题(16QNXR16);四川医事卫生法治研究中心2016年度项目(YF15-Y09)。

**[作者简介]**陈晓东,男,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治胃癌癌前病变。

**[通讯作者]**\*潘华峰,女,教授,博士研究生导师,E-mail:13711588328@126.com。

不可少的工具。由于N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)作用机理特性<sup>[1-2]</sup>, MNNG在诱导PLGC大鼠模型具有独特优势,因此MNNG是目前公认的较为理想的造模制剂,但MNNG法普遍存在造模周期长、诱发率低等缺点,如何复制出与临床最相似、方法简单、选框周期较短、成功率较高的PLGC模型仍是研究的重点,本文拟根据不同给药途径分类,对不同MNNG法复制PLGC模型进行综述。

## 1 MNNG法复制PLGC大鼠模型

### 1.1 MNNG自由饮用或联合其他制剂进食造模

MNNG采用自由饮用的给药途径方式造模,其操作简单,可避免如灌胃、手术等操作对大鼠自身的伤害,但不能保证每只大鼠的饮用量,易致造模周期长、成功率低的结果。王茵萍等<sup>[3]</sup>取雄性SD大鼠自由饮用60 μg/mL MNNG造模,持续31周,期间不作任何治疗及其他辅助造模方法,结果表明胃黏膜不同程度的萎缩、肠化生等,其中大鼠肠化生达100%,异型增生达46%。唐友明等<sup>[4]</sup>取Wistar雄性大鼠均自由饮用170 mg/L的MNNG液,造模期间不再给予其他饮水,共8周。刘静等<sup>[5]</sup>取SD大鼠,采用MNNG饮水结合饥饿失常12周,均成功复制CAG胃癌前变大鼠模型。有研究表明<sup>[6]</sup>,低酸环境易加速MNNG诱发胃癌前病变的作用,因此有学者在饲料中加用雷尼替丁等抑制胃酸分泌以产生低酸环境,张艳等<sup>[7]</sup>选用雄性Wistar大鼠,给予浓度为55 μg/mL的MNNG溶液,同时给予0.04%雷尼替丁粉末饲料,造模20周,大鼠胃黏膜萎缩,肠化生、异型增生,PLGC诱发率为83%。实验中后期,因大鼠健康状态下降,从而对造模制剂饮用量减少,若结合饥饿失常饮食造模,则可因禁食而导致饮水量降低,导致每天饮用量不一致,所以该给药途径受大鼠的身体状况及习性影响较大,从而对实验造成不利影响。

### 1.2 MNNG单药灌胃造模

灌胃给药方式可以保证每只大鼠对造模制剂的摄入量,减少因大鼠生活习性而引起的实验困难,但不能排除灌胃的操作方式对胃黏膜刺激或药物理化性质的影响。有外国文献报道<sup>[8]</sup>,通过比较灌胃与其他给药方式(食品添加)在造胃癌模型的实验差异,发现在复制成功的模型中,灌胃给药方式有12%的胃癌发生在前胃,而食品添加方式则只有2%发生在前胃,推测灌胃给药方式对造模剂的理化性质产生影响。目前MNNG单药灌胃方式给药相关报道较少,复制PLGC模型效果仍待探讨,但因为单药仍是

一种相对廉价的造模方式,经过对造模制剂的浓度、给药频次等进行调整,则能较好的复制出满意的动物模型。如陈飞松等<sup>[9]</sup>对Wistar大鼠用400 μg/mL的MNNG短期连续灌胃10 d后,正常饲养26周,有45%大鼠出现不同程度异型增生。

### 1.3 MNNG灌胃,联合其他制剂进食造模

魏玥等<sup>[10]</sup>采用雄性Wistar大鼠,给予120 μg/mL的MNNG溶液灌胃,0.1%氨水溶液自由饮用及进食含0.03%雷尼替丁饲料,造模28周,结果显示模型组中60%出现中重度异型增生。贺梅娟等<sup>[11]</sup>选用雄性Wistar大鼠,每日给予120 μg/mL的MNNG溶液灌胃,同时每日自由饮用浓度为0.05%氨水溶液,自由进食0.03%雷尼替丁饲料,持续28周,造模成功率为66%。氨水的作用主要是模拟动物感染幽门螺杆菌(Hp),雷尼替丁可在胃部营造低酸环境,配合MNNG使大鼠处于持续胃炎状态。目前,许多学者接受使用MNNG、氨水及雷尼替丁三联制剂造模法,可以有效促进胃癌前病变的发生。该造模方式相对于MNNG单药灌胃,优势在于合用其他制剂造模,通过不同的制剂组合能加强对胃黏膜的刺激,从而提高PLGC动物模型的复制成功率。

### 1.4 MNNG自由饮用,联合其他制剂灌胃造模

崔儒涛等<sup>[12]</sup>给大鼠自由饮用100 μg/mL MNNG液24周,同时用无水乙醇于第1、3、5、7周灌胃(2 mL/只),胃癌前病变动物模型诱发率高达73.3%。谢晶日等<sup>[13]</sup>给予100 μg/mL MNNG自由饮用,热盐水和雷尼替丁混合灌胃,第14周造模成功,诱变率为50%。周杰等<sup>[14]</sup>建立实验大鼠时采用自由饮用150 μg/mL MNNG溶液,每周2次灌胃给予40%的酒精,连续12周,并结合饥饿失常复制CAG模型,造模病理结果提示符合胃癌前病变诊断并具有统计学意义。李海文等<sup>[15]</sup>给予200 μg/mL MNNG溶液自由饮用、小承气汤灌胃及联合饥饿失常法复制PLGC大鼠模型,连续造模18周,亦达到预期造模效果。

此类型造模方式,一方面,合用理化损伤制剂进行动物模型制备,一般情况下能提高造模的成功率;另一方面,相对于单独使用MNNG造模,能缩短造模时间,提高诱发率。但灌胃方式本身会对实验参与人员的操作手法有一定的要求,且越到实验后期,大鼠健康状态下降,甚至反复灌胃导致大鼠胃食管损伤或引起胃肠道胀气等疾病时,大鼠的死亡率可能会提高,给实验带来不良的影响。

### 1.5 MNNG与其他制剂联合灌胃造模

石宇等<sup>[16]</sup>利用100 μg/mL MNNG分别与60%

乙醇、0.2%去氧胆酸钠组合灌胃给药,造模周期45周,成功复制出胃癌前病变模型,结果显示:MNNG单药诱发率33.3%,MNNG+乙醇诱发率88.8%,MNNG+支氧胆酸钠诱发率60%,MNNG+乙醇+支氧胆酸钠诱发率25%,总体死亡率14%。该实验虽可成功复制胃癌前病变,但造模时间长,实验方法仍需改进。岳双冰等<sup>[17]</sup>采用MNNG、乙醇、雷尼替丁联合灌注的综合造模法,造模时长20周,观察两组大鼠一般状况、舌质、胃重、胃黏膜病理等变化,结果显示实验组一般状况较差,舌质表现明显的血瘀征象,病理观察胃黏膜形态有典型的CAG癌前病理改变,该胃癌前病变血瘀证动物模型与胃癌前病变患者临床表现有较好的一致性,为中医药研究治疗胃癌前病变,提供了较为合适的动物模型支撑。

灌胃给药途径最主要的缺点就是灌胃次数多,孔祥茹等<sup>[14]</sup>发现相对于自由饮用方式给药,MNNG灌胃方式可使胃癌前病变的诱变率降低、动物死亡率上升,且灌胃方式诱发前胃病变多见。因此,灌胃方式虽然可保证摄入量并能加强对胃黏膜的刺激,但实际造模效果仍有待探讨。

### 1.6 MNNG联合手术方式造模

此造模方式常见有2种,第一种是利用手术方法使十二指肠液反流入胃,因其含有胆汁肠液和胰液等碱性物质,可引起长期直接的胃黏膜损伤,进而引起胃黏膜炎性反应并造成固有腺体萎缩,从而复制CAG<sup>[18]</sup>。如张旭晨等<sup>[19]</sup>在无菌条件下在幽门环

处置入一金属弹簧并予缝线固定,然后逐层缝合胃及腹壁切口。术后一周给予自由饮用100 μg/mL MNNG 4个月。结果显示16周时已出现典型的癌前期病变。第二种方式是手术方法直接在胃部注射某种药物,直接并持续损伤胃黏膜,以达到造模目的。如周本杰等<sup>[20]</sup>打开大鼠腹腔暴露胃后,将醋酸注入到腺胃部前壁窦体交界处浆膜下,再用自由饮用法和灌胃法分别进行MNNG造模14周和8周,能成功复制出胃癌前病变模型。此方法优点在于造模时间短,但也存在不少缺点,如手术技术难度较高,需要较好的技术人员及相关设备,同时需密切观察大鼠的术口情况,防止伤口感染及缝线松动。第一种方法相对适合于研究胆汁反流在胃病方面的研究,而第二种方法相对适合于溃疡或胃癌方面的研究。目前在胃癌前病变的相关文献中,手术方式造模的报道较少,其可行性仍需等待相关科研人员的进一步探究。

## 2 不同造模给药方式效果评价

选择何种造模方式,需根据具体实验条件与时空限制进行选择。若允许造模时间长,可选择MNNG自由饮用或联合其他制剂进食方式。若需要造模时间短,实验室人力条件充足,可尝试选择MNNG联合手术方式。若要求稳定的造模效果,可选择MNNG灌胃,联合其他制剂进食的方式。不同造模给药方式的优缺点具体见表1。

表1 不同造模给药方式效果对比表

造模方式	优点	缺点
MNNG自由饮用或联合其他制剂进食	操作简单方便	受大鼠生活习性影响大,造模效果难以保证。
MNNG单药灌胃	保证造模剂摄入量,提高诱变率	大鼠死亡率高
MNNG灌胃,联合其他制剂进食	保证造模剂摄入量,缩短造模时间	大鼠死亡率高
MNNG自由饮用,联合其他制剂灌胃	保证辅助造模剂摄入量,缩短造模时间	后期受大鼠生活习性影响大,造模效果难以保证,大鼠死亡率高
MNNG与其他制剂联合灌胃	保证造模剂摄入量,缩短造模时间	操作复杂,造模效果难以保证
MNNG联合手术方式	造模时间短	技术要求高

## 3 其他相关因素

### 3.1 实验动物选择

建立胃癌前病变动物模型时对动物一般要求其诱变率高,饲养方便。经查询相关文献资料,可见目前普遍使用Wistar或SD大鼠作为实验动物。主要原因是大鼠成本低,易于饲养。而其他动物如犬或裸鼠,因成本高或感染致死率高等缺点而不被普遍使用。但不同种系、性别乃至不同鼠龄的大鼠均会直接影响胃癌前病变诱发率及造模时间。有研究表

明<sup>[21]</sup>,鼠龄12周以内,体质量120 g以下的大鼠,胃癌前病变的诱发率明显高于年龄更大、体质量更高的大鼠。由于激素水平差异,雄性大鼠对致癌物质的敏感性较强<sup>[9]</sup>。SD大鼠相对于Wistar大鼠较为适合于药理、药效方面的研究,但SD大鼠成本较高。因此,目前大多数科研者选择用Wistar系雄性幼龄大鼠。

### 3.2 影响因素

MNNG浓度、给药途径、频次、周期、合用药物等的不同所复制PLGC大鼠模型存在较大差异。自由饮用还是灌胃给药法复制PLGC大鼠模型,MN-



NG 合理浓度均为 50~100  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[22]</sup>,浓度过低则模型复制周期长,成功率低;浓度过高则易出现如结肠癌等其他肿瘤;灌胃方式相对于自由饮用方式,可使诱变率降低、动物死亡率上升,且灌胃方式诱发前胃病多见<sup>[1]</sup>。MNNG 合用不同药物时产生不同的造模效果,合用药物可有雷尼替丁、氨水、乙醇等,且合用药物的剂量、频次等亦有差别,具体选择应根据不同的实验需求及所处的实验环境综合考虑。

### 3.3 PLGC 大鼠模型评价标准

病理组织诊断为 PLGC 评定的金标准,在胃黏膜萎缩基础上伴中、重度的异型增生和不完全大肠型化生则为严格意义上 PLGC。考虑到造模实验的难度及不确定性,部分学者将在慢性萎缩性胃炎基础上伴发的不完全型肠上皮化生和(或)中、重度异型增生视为 PLGC,以放宽纳入标准。PLGC 大鼠模型的复制,目的在于在大鼠体内呈现人胃癌前病变的病理状态,因此笔者认为大鼠模型的评价标准必须按照严格意义上 PLGC 评价标准,才能达到严谨合理的研究要求。

## 4 结语

探寻一种简便易行且成功率高的复制 PLGC 大鼠模型方式具有重要意义,从初始的单一因素造模方式到现在普遍使用的多因素复合造模方式的转化,体现了造模水平的提高以及对合适的动物模型的迫切需求。在造模过程的各个环节上,通过不断的改进,不断的完善,以得到更符合需求的动物模型。MNNG 自由饮用、联合其他造模制剂灌胃或结合手术方式等方法或周期过长或技术难度高,未能明显缩短造模时间以及提高胃癌前病变的成功率,但其造模相关创新点的提出以及所引发的思考,对科研者造模技术的改进产生一定的启发,许多学者仍在积极探求更为合适的造模方式。目前稳定制作出 PLGC 大鼠模型的造模方式尚无公认定论,未来 PLGC 大鼠造模方式的创新,可在 MNNG 浓度的选择、大鼠品种上进行探索。选择的多样性也提示我们实验的灵活性,我们在实验的设计过程中,应根据我们自身实验的要求及实验条件,选择合适的造模方式,才能达到最为理想的实验目的。

### 参考文献:

[1] 孔祥茹,杨岩,李慧臻,等.MNNG 不同给药剂量及途径对大鼠胃黏膜组织病理学的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2015,23(6):381-384,389.

- [2] 袁红霞,刘彩梅,刘清君,等.胃癌前病变大鼠模型构建方法的探讨[J].中国当代医药,2009,16(19):9-10.
- [3] 王茵萍,孙茂峰,范刚启,等.穴注黄芪、当归注射液对实验性慢性萎缩性胃炎胃粘膜血流的影响[J].针刺研究,2003,28(1):33-37.
- [4] 唐友明,朱永苹,林寿宁,等.安胃汤对 CAG 大鼠胃黏膜 EGF 及 EGFR 表达的影响[J].陕西中医,2010,31(12):1678-1680.
- [5] 刘静,潘华峰,赵自明,等.胃痞消对脾虚型 CAG 胃癌前病变大鼠外周血 T 细胞亚群的影响[J].中药新药与临床药理,2010,21(2):116-118.
- [6] 李俊青.参七消痞颗粒对 MNNG 负荷多因素致大鼠慢性萎缩性胃炎的干预作用及机制探讨[D].北京:北京中医药大学,2013.
- [7] 张艳,汪永锋,刘喜平,等.半夏泻心方及其拆方配伍组对实验性大鼠胃癌前病变胃黏膜组织病理学影响[J].甘肃中医,2007,20(6):69-71.
- [8] Toxicol Sci. Mode-of-action framework for evaluating the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment[J]. 2007, 98(2): 313-326.
- [9] 陈飞松,施波,车建途,等.芪龙方防治大鼠胃癌前疾病的作用[J].中国中西医结合脾胃杂志,1999,7(2):68-71.
- [10] 魏玥,杨晋翔,杨会敏,等.益气化痰解毒法对慢性萎缩性胃炎伴异型增生大鼠干预的实验研究[J].胃肠病学和肝病学杂志,2011,20(10):916-919.
- [11] 贺梅娟,杨晋翔,安静,等.益气化痰解毒法对慢性萎缩性胃炎伴异型增生大鼠 P21~(WAF1)及 CyclinD1 的影响[J].北京中医药大学学报,2014,37(11):773-776.
- [12] 崔儒涛,蔡淦,程勇,等.全反式维甲酸对大鼠胃粘膜上皮异型增生细胞凋亡及调控基因(Bcl-2, Fas, ICE)蛋白表达的影响[J].中华消化杂志,2000,20(2):6-8.
- [13] 谢晶日,王业莉,张扬,等.复合造模法建立大鼠胃癌前病变模型的实验研究[J].新中医,2013,45(2):139-141.
- [14] Drug Res (Stuttg). Effect of Astragalus polysaccharides on chronic atrophic gastritis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats [J]. 2013, 63(11): 597-602.
- [15] 李海文,潘华峰,曾进浩,等.胃炎 I 号对胃癌前病变大鼠胃黏膜 NF- $\kappa$ Bp65, IKK $\beta$  mRNA、VEGF 表达的影响[J].中华中医药杂志,2015,30(8):2945-2948.
- [16] 石宇,李连宏.复合因素诱发大鼠胃粘膜癌前病变的动物模型[J].临床与实验病理学杂志,2000,16(5):406-408.
- [17] 岳双冰,张仲海,马经野,等.大鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变血瘀证模型的研制[J].中国中西医结合消化杂志,2009,17(2):123-125.
- [18] 林钟宇,赵金媛,潘华峰,等.CAG-PLGC 实验动物模型的回顾和评价[J].现代中西医结合杂志,2015,24(15):1699-1702.
- [19] 张旭晨,赵凤志,代欣,等.综合法复制大鼠胃癌前期病变模型[J].中华实验外科杂志,1994,11(5):311-312.
- [20] 周本杰,陈蔚文,王建华,等.溃疡结合 MNNG 攻击诱发大鼠胃癌模型初探[J].中药药理与临床,2000,16(3):45-46.
- [21] 袁孝兵.大鼠胃癌前病变模型的研究进展[J].安徽中医学院学报,2004,23(5):62-64.
- [22] 金行藻.胃粘膜活检中癌和异型增生的诊断[J].临床与实验病理学杂志,1999,15(3):68-69,105.

(本文编辑 匡静之)